[食品検査用試薬]

2013 年 4 月 改訂（第 4 版）*
2009 年 10 月 改訂（第 3 版）**

NH イムノクロマト カンピロバクター ≪取扱説明書≫

※本キットをご使用になる前に必ずお読みください。

【開発の経緯】

カンピロバクター属は、2005 年現在、17 菌種が知られており、中でもカンピロバクター・ジェジュニ（*C.jejuni*）とカンピロバクター・コリ（*C.coli*）が食中毒菌に指定されています[1)]。

日本国内におけるカンピロバクターによる食中毒は、近年、事件数において常に上位で、2011年は第一位となっていることから、食品衛生上極めて重要な食中毒です。特に鶏肉のカンピロバクター汚染が極めて高いことから、鶏肉からの二次汚染の防止だけでなく、養鶏場や食鳥処理場での予防対策が求められています[2)]。

本品は、イムノクロマト法を用いた食品中のカンピロバクター検出キットで、簡単な操作で短時間に結果を得ることができます。

【本品の特徴】

1） 1ステップの簡単な操作のため、習熟を必要としません。
2） 迅速に結果が得られます。
3） 特別な検出装置を必要としません。

【キットの内容】

1） 構成品**

A: テストストリップ・・・・・・・・・・・・・・ 2 テスト×10
B: 取扱説明書・・・・・・・・・・・・・・・・ 1 部
C: ビニールパウチ袋 ・・・・・・・・・ 1 枚

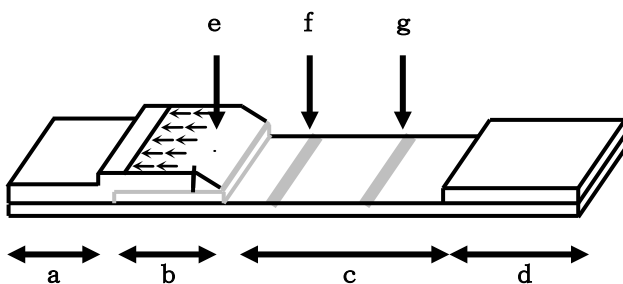
2） 成分**

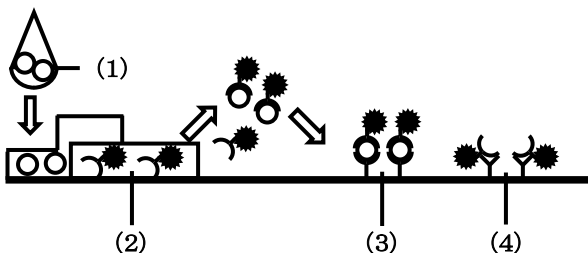
① 試薬含有部
金コロイド標識抗カンピロバクターモノクローナル抗体（マウス）
② 展開部
抗カンピロバクターモノクローナル抗体（マウス）
抗マウス免疫グロブリン抗体（ヤギ）

【目的】

1） 食品中に含まれるカンピロバクター（*C.jejuni*, *C.coli* ）の検出。

【テストストリップ各部名称および検出原理**】

1） テストストリップ各部名称**

a. 試料滴下部（手で触れないよう注意してください。）
b. 試薬含有部
c. 展開部
（手で触れたり、キズをつけないよう注意してください。）
d. 吸収パッド
e. 測定項目記載位置
f. テストライン出現位置（試料滴下部より約 30mm）
g. コントロールライン出現位置（試料滴下部より約 38mm）

2） 検出原理**

テストストリップの試料滴下部に試料溶液を滴下すると、試薬含有部に含まれる金コロイド標識抗カンピロバクター抗体（2）が溶解し、試料溶液中のカンピロバクター（1）と複合体を形成します。これらの複合体は展開部を毛細管現象により移動し、テストライン出現位置に固定化された抗カンピロバクター抗体（3）に捕捉され、金コロイドによる赤紫色のラインが出現します。本キットはこの赤紫色のラインを目視により確認し、試料溶液中のカンピロバクターの有無を判定します。

一方、試料溶液中のカンピロバクターの有無に関わらず、余剰の金コロイド標識抗体が展開部をさらに移動し、コントロールライン出現位置に固定化された抗マウス免疫グロブリン抗体（4）に捕捉され、赤紫色のラインを形成します。このラインの有無により、試料溶液が展開部を正常に移動したことを確認します。

【試料溶液の調製1（食品からの検出）】*

1） 必要な機器・器材

ストマッカー袋（フィルター付を推奨）、ストマッカー、インキュベーター、オートクレーブ、増菌用培地、微好気ガス発生袋、嫌気ジャーほか

2） 試料の調製

① 被検食品から 200g 以上を採取してください。なお、表面汚染が考えられる場合には、表面部 300～500cm^2 を厚さ0.2～0.3mmに薄く削り取ってください。

② 採取した検体の全体を細切にし混和した後、その 25g をストマッカー袋に秤量して試料としてください。

3） 増菌培養

① ストマッカー袋中の試料 25g に対して、プレストン培地 100mL を加え、30 秒間ストマッカー処理を行ってください。

② ストマッカー袋ごと、微好気条件下にて 42±1℃で 48 時間培養してください。

注 1： 微好気条件とは酸素 5%，二酸化炭素ガス 10%，窒素 85%を基本とします。

注 2： ミンチ肉を検体とする場合には、ストマッカー処理を行わず、ストマッカー袋の外側から手で揉んで検体をほぐすことを推奨致します。

4） 滅菌操作

① 培養終了後、ストマッカー袋をインキュベーターより取り出し、培養液の飛散に注意しながら、緩やかに攪拌してください。

② 滅菌済みピペットを用いて、必要量の培養液（0.5～1.0mL を目安としてください）を別な容器に分注し、5 分間煮沸滅菌（もしくはヒートブロック等で 95℃、5 分間加熱）してください。

③ 煮沸滅菌終了後、室温まで十分冷却し、試料溶液としてください。

注 1： 培養液を分注する際は、試料（食品）残渣の巻き込みに十分注意し、大量の残渣を巻き込んだ場合には、3,000rpm，1 分間遠心分離し、その上清を使用してください。

注 2： 本キットは生菌でも検出可能ですが、試験者の安全確保のため、煮沸滅菌済み培養液にて試験を行うことを推奨します。また、生菌での試験時には、培地中の血液成分により判定部が着色するため、視認性が低下しますので、ご注意ください。

注 3： オートクレーブ滅菌を行うと反応性が低下する可能性があるため、行わないで下さい。

注 4： 培養液の残りは、本キット試験実施後の確定試験に使用する可能性があるため、試験終了後まで保存してください。

【試料溶液の調製2（コロニーからの検出）】**

1） 必要な機器・器材

インキュベーター、オートクレーブ、マイクロピペットおよびチップ、PBS ほか

2） 試料の調製

寒天培地上で培養したコロニー1 個～数個を PBS 150μL に懸濁し、試料溶液としてください。

注 1： コロニーからの検出の際には、試料溶液の煮沸は必要ありません。

注 2： mCCDA、バツラー、およびスキロー培地上のコロニーを検査可能であることが確認されています。

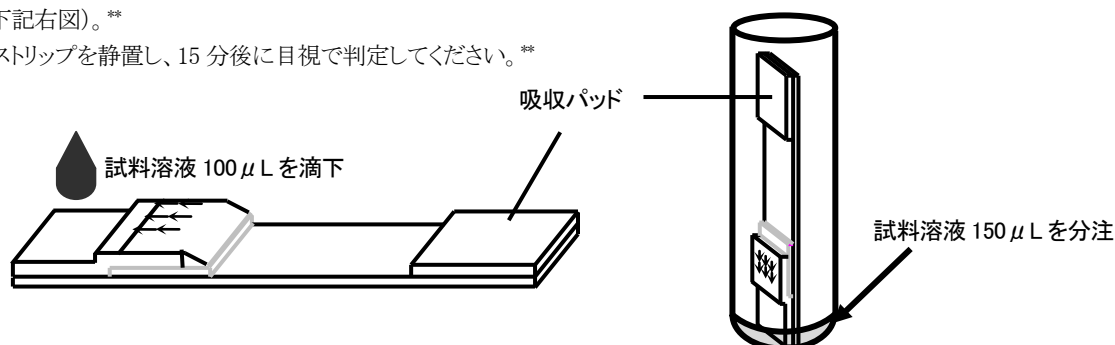
【試験操作】

1） NH イムノクロマト カンピロバクター試験操作

① テストストリップをアルミパウチ袋に入れたまま室温に戻し、使用直前にアルミ包装から取り出してください。**

② 取り出したテストストリップの吸収パッドに油性ペン等を用いて、試料名もしくは検体番号等を記入してください。**

③ テストストリップを水平な台の上に静置し、試料滴下部に試料溶液 100μL 滴下してください（下記左図）。もしくは、試料溶液 150μL を試験管に分注し、テストストリップの試料滴下部が試料溶液に浸かるようにテストストリップを試験管に添加してください（下記右図）。**

④ テストストリップを静置し、15 分後に目視で判定してください。**

注 1： テストストリップは吸湿の影響により、正しい結果が得られないことがあるため、室温に戻してからアルミ包装から取り出してください。また、使用しないテストストリップは乾燥剤とともにビニールパウチ袋に入れ冷蔵保存してください。**

注 2:　テストストリップの試料滴下部および展開部に、直接手などで触れたり、キズをつけないよう注意してください。テストストリップを持つ場合には、吸収パッドを持つようにしてください。**

注 3:　試料溶液を滴下もしくは分注するために使用するピペットもしくはチップは滅菌済みのものを使用し、試料溶液ごとに交換してください。

注 4:　試料溶液 100μL を滴下する際には、テストストリップから溢れないよう注意し、必要に応じ、2 回に分けて滴下するなどしてください。**

注 5:　試験者の感染防止のため、試料溶液を滴下して試験を行う際はテストストリップの下にラップ等を敷いて試験を行うことをお勧めします。**

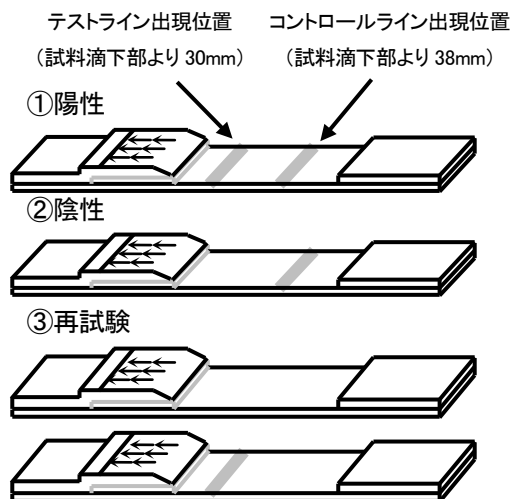
注 6:　ミンチ肉を検体とした場合、試料溶液の展開に異常が生じる可能性があるため、試料溶液の滴下量を増やしてください。

3)　結果の判定

①　試験開始 15 分後にテストライン出現位置およびコントロールライン出現位置に赤紫色のラインが観察される場合には、陽性と判定してください。

②　テストライン出現位置に赤紫色のラインが認められず、コントロールライン出現位置にのみ赤紫色のラインが観察される場合には、陰性と判定してください。

③　コントロールライン出現位置に赤紫色のラインが認められない場合には、テストライン出現位置における赤紫色のラインの有無に関わらず、再試験としてください。試料溶液の展開に異常があった可能性があります。

注1:　本キットで陽性と判定された試料については、他の方法にて必ず確認試験を実施してください。なお、本キットの試験に用いた増菌培養済み試料を確認試験に使用することが可能です。

【性能】

1)　感度試験

本取扱説明書に記載された「試料溶液の調製」および「試験操作」に従い試験を行うとき、*C.jejuni* が 1×10^{5}CFU/mL 濃度以上のとき陽性を示します。

2)　再現性試験

C.jejuni 陽性の試料溶液、および陰性の試料溶液を各 3 回同時に試験するとき、陽性の試料溶液はすべて陽性、陰性の試料溶液はすべて陰性を示します。

3)　最小検出感度

本キットの最小検出感度は、*C.jejuni* 標準菌株 6 株による試験では、1×10^{4}～10^{6}CFU/mL、また *C.coli* 標準株 2 株による試験では、1×10^{5}～10^{6}CFU/mL であることが確認されています。

注 1:　本キットの最小検出感度は、試料中の成分の影響により、変動する場合があります。

4)　交差反応性

①　以下の菌株との交差反応性は認められませんでした。

菌種	標準株 ID	判定結果
Campylobacter fetus subsp. *Fetus*	JCM2527	—
Campylobacter fetus subsp. *Venerealis*	JCM2528	—
Citrobacter freundii	ATCC8090	—
Enterobacter aerogenes	ATCC13048	—
Enterobacter cloacae	ATCC13047	—
Enterobacter sakazakii	ATCC51329	—
Escherichia coli O157	ATCC43888	—
Escherichia coli O26	RIMD05091876	-
Escherichia coli O1	ATCC11775	-
Escherichia hermannii	JCM1473	—
Klebsiella pneumoniae	ATCC4352	—
Klebsiella oxytoca	ATCC8724	—
Pseudomonas aeruginosa	ATCC9027	—
Proteus vulgaris	ATCC6380	—
Salmonella Enteritidis	ATCC13076	—
Salmonella Typhimurium	ATCC13311	—
Serratia liquefaciens	ATCC27592	—

菌種	標準株 ID	判定結果
Serratia marcescens	ATCC8100	—
Serratia odorifera	ATCC33077	—

② *Campylobacter lari* および *Campylobacter upsaliensis* は、*C.jejuni*、*C.coli* と同一抗原を保有しているため、交差反応性を示します。

【使用上または取り扱い上の注意事項】

1） 使用上の注意事項

① 本キットをご使用になる際には、取扱説明書をよく読み、記載された試験方法に従って使用してください。
② 使用期限の過ぎたキットは使用しないでください。使用期限はキット外装ラベルおよびテストストリップアルミ包装にに記載されています。**
③ 本キットは食品中からカンピロバクターを検出するための試薬であり、臨床的診断を下す目的で使用することはできません。
④ 試料中の成分の影響により、偽陽性が示される可能性があります。本キットで陽性を示した試料については、他の方法により、必ず確認を行ってください。
⑤ 試料溶液の調製に使用する器具ならびに試薬類（培地を含む）の使用方法等については、それぞれの製造元もしくは販売元にご確認ください。
⑥ 本取扱説明書は検査担当者のガイドラインとして作成されています。各操作手順や各々の食品におけるアプリケーションの妥当性については自ら検証してください。
⑦ 商品の仕様については、予告なく変更になる場合があります。

2） 危険防止上の注意事項

① 本キットの検出対象であるカンピロバクターは微量でも感染する可能性があります。また、カンピロバクター以外の微生物による感染の可能性もあるため、試験を実施する際には保護手袋、保護メガネ等を着用するなど十分留意してください。
② 試験を実施する際には、適切な設備・施設で行い、責任ある管理者の指導のもとで標準的な微生物検査手順にて実施してください。
③ 誤って試料溶液等が目や口に入った場合には、直ちに水道水で洗い流す等の応急処置を行い、医師の手当てを受けてください。
④ 本キットによる試験実施後、身体に異常を感じた場合には、直ちに医師の手当てを受けてください。

3） 廃棄上の注意事項

① 試験に使用したテストストリップや増菌培地、試料および試料溶液の残り等は、感染の可能性があると考え、必ずオートクレーブ処理（121℃、20 分）、もしくは 0.1％次亜塩素酸ナトリウム溶液に 1 時間以上浸すなどの適切な滅菌処理を施してください。**
② 本キットならびに試料および試料溶液の残りなどを廃棄する場合には、当該地域の廃棄物に関する規定に従い、衛生面、環境面に十分配慮し廃棄してください。

【貯法・使用期限】

1） 貯法 ： 冷蔵（2～8℃）、遮光にて保存してください。また、凍結は避けてください。
2） 使用期限 ： 製造日より 12 ヶ月。

【包装単位】

NH イムノクロマト カンピロバクター 20 テスト入

【参考文献】

1） 小野一晃：モダンメディア, Vol.54, No.5, 159-163（2008）.
2） 伊藤武ら：獣医畜産新報, Vol.60, No.11, 911-915（2007）.
3） 国立医薬品食品衛生研究所「食品からの微生物標準試験法検討委員会」http://www.nihs.go.jp/fhm/kennsahou-index.html

〔販売元および問い合わせ先〕

キット外装ラベルに記載

〔製造元〕

〒300-2646 茨城県つくば市緑ヶ原 3-3
日本ハム株式会社 中央研究所
電話：029(847)7825／FAX：029(848)1256*
URL：http://www.rdc.nipponham.co.jp